Aus dem Institut für Pharmakologie und experimentelle Therapie
der Universität Breslau
(Direktor: Prof. Dr. Riesser)

Beeinflussung der Wirkung der arsenigen Säure durch Borsäure

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde in der Zahnheilkunde
der Hohen Medizinischen Fakultät
der Schlesischen Friedrich-Wilhelms-Universität zu Breslau

vorgelegt von

Josef Mücke,
Zahnarzt

Breslau 1932

Breslauer Genossenschafts-Buchdruckerei e. G. m. b. H., Breslau 1

Gedruckt mit Genehmigung der medizinischen Fakultät der Schlesischen Friedrich-Wilhelms-Universität zu Breslau.

1. Berichterstatter: Privatdozent Dr. Taubmann.
2. „ Prof. Dr. Riesser.

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Die Anwendung der arsenigen Säure in der Zahnheilkunde zur Abtötung des Zahnnerven und der Pulpa stellt pharmakologisch einen bemerkenswerten Sonderfall dar. Die mäßige Löslichkeit des in Substanz aufgebrachten As_2O_3 und die Abgeschlossenheit der Zahnhöhle gestatten es, mit Dosen zu arbeiten, die im Verhältnis zum betroffenen Gewebe überaus groß sind, auf alle Fälle den gesamten Zahninhalt sicher abtöten. Darüber hinaus aber ist die Giftmenge ausreichend, um in manchen Fällen eine weitergehende unerwünschte Schädigung zu setzen. Daß eine Periodontitis und Periostitis nicht die Regel ist, liegt wohl daran, daß in dem engen for. apicale die entzündliche Hyperämie sehr bald zu einer Drosselung der weniger widerstandsfähigen Vene und zur Stase führt, ein Vorgang, der die Nekrose der Pulpa vervollständigt.

Nicht selten überschreitet aber die Wirkung die gewünschte Grenze, und die Entzündung greift auf das den Zahn umgebende Gewebe über. Diese Komplikation bedeutet für den Patienten erhebliche Schmerzhaftigkeit, für den Zahnarzt die Notwendigkeit, die Einlage vorzeitig zu entfernen, ohne eine vollkommene Nekrose der Pulpa erreicht zu haben.

Trotzdem scheint es, daß Sicherheit und Schnelligkeit der Wirkung bei der arsenigen Säure so groß sind, daß andersartige Ersatzmittel sich nicht eingebürgert haben. Dagegen ist der Versuch gemacht worden, durch Zusätze zur arsenigen Säure die Wirkung zu begrenzen, ohne sie unter das gewünschte Maß zu verringern.

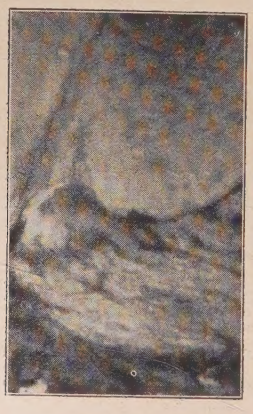
Als praktisch brauchbar wurde von Euler der Zusatz von Borsäure gefunden. Eine größere Versuchsreihe, deren Resultate in einer Dissertation von Jordan[1]) zusammengefaßt sind, bestätigte den anfänglichen Befund, gab aber keine Erklärung für ihn.

---

[1]) P. Jordan. Diss. Göttingen.

Im folgenden soll nun versucht werden, diese Erklärung zu liefern, zunächst um ein merkwürdiges pharmakologisches Faktum dem Verständnis näher zu bringen, dann aber auch, weil unsere derzeitige Unfähigkeit, die Arsenvergiftung wirksam zu beeinflussen, dazu zwingt, jeden Vorgang, der zur Arsenentgiftung Beziehung zu haben scheint, zu prüfen, auch dann, wenn dieser Versuch zunächst keinen praktisch verwertbaren Erfolg hat.

Um den Ausgangsbefund noch einmal zu wiederholen, wurde zunächst folgender Versuch angestellt. Einem Hunde wurden in Morphinnarkose an mehreren symmetrischen Zähnen des Ober- und Unterkiefers das Kavum eröffnet und auf der einen Seite je 1mg As_2O_3, auf der anderen 1mg As_2O_3 mit 1mg Borsäure sorgfältig gemischt eingebracht. Die Öffnung wurde mit schnellhärtendem Phosphatzement verschlossen. Nach 60 Stunden wurde der Hund getötet, und die einzelnen Kieferstücke wurden zusammen mit den Zähnen herausgesägt. Darauf folgte langsame HNO_3 — Entkalkung und Einbettung in Celloidin. Der Unterschied zwischen der Wirkung der arsenigen Säure allein und der Mischung mit Borsäure ist schon mit bloßem Auge sichtbar. Noch deutlicher wird er bei mikroskopischer Betrachtung. (Im folgenden wird der Kürze halber von der Wirkung des As, bzw. As + B gesprochen.) (Abb. 1 a und b.)

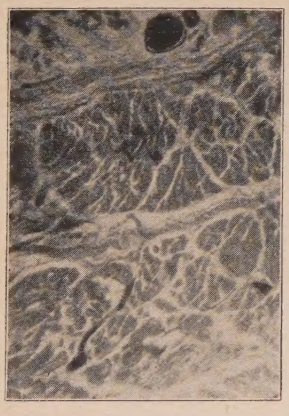


Zahnschnitte

Arsenige S. + Borsäure. Arsenige Säure.

An Stelle des normalen Periodontiums, das in Abb. 1 a als zartes schwarzes Band sichtbar ist, erscheint in Abb. 1 b ein breiter hämorrhagisch-entzündlicher Gürtel, von dem Ausläufer in den Kieferknochen sich erstrecken. Die übrigen Zähne gaben gleichartige Bilder.

Weiter wurde untersucht, ob es sich bei dem beschriebenen Befund um eine Eigentümlichkeit des Zahn-Knochengewebes oder um eine allgemein nachweisbare Erscheinung handelt. Um einen parallel deutbaren Befund zu erhalten, wurden die arsenige Säure und das Gemisch in fester Form, als Paste an das Gewebe herangebracht. Zu diesem, sonst nicht üblichen Vorgehen waren wir genötigt, da es von vornherein schien, daß die Verwendung der festen Substanz von Bedeutung für das geschilderte Resultat war. Eine solche Paste, die 1mg As_2O_3 enthielt und mit succ. liquir. und einer Spur Eugenol geformt war, wurde einem Kaninchen in eine Tasche in der Bauchmuskulatur eingenäht. Nach 36 Stunden wurden die Tiere getötet und seziert. Makroskopisch waren die Pasten weitgehend zerfallen, in der Umgebung der As-Paste blaurote Verfärbung des zundrigen Gewebes auf einem Gebiet von 5 cm Durchmesser. Ein anderes Tier, das in der Paste gleichzeitig 1 mg Borsäure erhalten hatte, zeigte eine rote Verfärbung von ca. 3 cm Durchmesser bei gut erhaltenem Gewebe. Mikroskopisch fiel außerdem in dem As-Präparat die außerordentliche Hyperämie auf. Die folgenden Bilder geben Schnitte durch den Rand des Entzündungsgebiets. (Abb. 2 a und b.)



Arsenige S. + Borsäure.

Arsenige Säure.

Schnitte vom Rand der As-Entzündung.

Demnach konnte die Verringerung der As-Wirkung durch Borsäure im Muskelgewebe ebenfalls nachgewiesen werden. Es war nun zu fragen, ob die Borsäurewirkung auch ausreichen würde, um eine sicher tödliche Menge As_2O_3 verträglich zu machen. In den folgenden Serienversuchen verwendeten wir Meerschweinchen, denen die Paste ebenfalls in eine Tasche der Bauchmuskulatur eingenäht wurde. Als sicher tödliche Dosis ermittelten wir 1 mg As_2O_3 auf 100 g Tier. Dies entspricht recht genau der für Kaninchen festgestellten subkutan letalen Dosis und liegt noch unterhalb des Wertes der alten Angabe der dos. let. für Meerschweinchen von Brouardel[2]) mit 1,3 mg/100 g. Dies widerlegt auch den möglichen Einwand, daß aus der Pastenmasse ungenügend As resorbiert wird und dadurch das Ergebnis unklar wird. Die folgende Tabelle gibt die Resultate der As, bzw. As + B-Gaben.

Tabelle 1.

1mg As_2O_3/100 g.	
Gewicht in g	Resultat
760	tot nach 48 Std.
700	„ „ 36 „
880	„ „ 30 „
370	„ „ 54 „
740	„ „ 28 „
210	„ „ 48 „
210	„ „ 96 „

1mg As_2O_3	1mg Bors./100 g.
Gewicht in g	Resultat
490	überlebt.
520	überlebt.
250	überlebt.
380	überlebt.
210	tot nach 108 Std.
810	tot nach 84 Std.
720	überlebt.
270	tot nach 106 Std.

Es haben also bei der Kombination As + B 5 von 8 Tieren eine Dosis überstanden, an der sämtliche Tiere,

[2]) Brouardel, Thére, 1897. Zit. nach Feury-Cernitz. Dosen.

die nur As bekommen hatten, eingingen. Bemerkenswert ist, daß die drei Tiere, die As + B nicht überstanden, sich gegenüber dem Durchschnitt der As-Kontrollen wesentlich länger hielten.

Außerdem fiel auf, daß die kombiniert behandelten Tiere erheblich länger munter blieben, als die allein mit As vergifteten. Bei höherer As-Gabe waren eigentliche Heilerfolge kaum mehr zu verzeichnen; lediglich die Zeit bis zum Tode wurde durch die Kombination deutlich verlängert. (S. Tab. 2.)

Tabelle 2.

Meerschweinchen 1,3 mg As_2O_3 in Paste

Gewicht	Resultat
680	tot nach 30 Std.
720	„ „ 36 „
370	„ „ 24 „
430	„ „ 36 „

Meerschweinchen 1,3 mg As_2O_3 1,3 mg Bors. Paste

Gewicht	Resultat
630	tot nach 48 Std.
560	überlebt.
400	tot nach 156 Std.
450	„ „ 132 „

Wurden As und B in gelöstem Zustand gemischt oder, um die Möglichkeit einer echten Entgiftung der resorbierten arenigen S. zu prüfen, getrennt voneinander injiziert, so war nur noch eine Verzögerung der Giftwirkung zu beobachten. (S. Tab. 3.)

Tabelle 3.

Meerschweinchen 1,0 mg As_2O_3 2 p. m. Lsg. sc.

Gewicht	Resultat
310	tot nach 15 Std.
305	„ „ 15 „
310	„ „ 24 „
320	„ „ 36 „

Meerschweinchen 1,0 mg As 2 p. m. Lsg.
1,0 mg Bors. in Mischung.

Gewicht	Resultat
320	tot nach 36 Std.
310	„ „ 84 „
325	„ „ 96 „
300	„ „ 60 „

1,0 mg Arsenige S. und 1,0 mg Bors. getrennt inj.

Gewicht	Resultat
410	tot nach 25 Std.
350	„ „ 30 „
380	„ „ 35 „
450	„ „ 36 „

Das Ergebnis wurde im letzten Fall auch nicht verändert, wenn größere Mengen von Borsäure gegeben wurden. Die Vergrößerung der Dosis war dadurch begrenzt, daß bei Borsäuremengen über 50 mg/100 g Tier die Kombination eher toxischer wirkte, wohl weil die Anfänge einer Borsäurevergiftung zur As-Wirkung hinzukamen.

Schließlich wurde noch die Beeinflußbarkeit der oralen As-Vergiftung durch Borsäure geprüft.

Kan. 1,6 Kg 10 mg/Kg As_2O_3 in 2 p. m. Lösung per os tot nach 23 Std.

Kan. 2,0 Kg 10 mg/Kg As_2O_3 in 2 p. m. Lösung per os tot nach 30 Std.

Kan. 1,7 Kg 10 mg/Kg As_2O_3 100 mg/Kg Bors. p. o. tot nach 60 Std.

Kan. 1,9 Kg 10 mg/Kg As_2O_3 100 mg/Kg Bors. p. o. tot nach 62 Std.

Demnach Verzögerung des Ablaufs, aber keine Heilwirkung.

Eine weitere Prüfung der Möglichkeit der As-Entgiftung schien nicht aussichtsvoll. Die bisherigen Resultate zusammenfassend, ist folgendes zu sagen. Die Hemmung der Giftwirkung der arsenigen Säure durch Borsäure gelingt sicher, wenn As in Substanz gegeben wird, weniger sicher, wenn eine Mischlösung von As + B subkutan injiziert wird und wird zweifelhaft, wenn die Lösungen getrennt subkutan gegeben werden. In diesem

Verhalten liegen schon einige Hinweise für den folgenden Versuch einer Erklärung des Entgiftungsvorganges.

Nach den vorangehenden Ausführungen war zunächst an eine Beeinflussung der Löslichkeit und damit der Resorption der arsenigen Säure zu denken. Um diese Frage zu klären, wurde die Löslichkeit von As_2O_3 in Wasser und in Borsäurelösung vergleichend geprüft.

Methodik: Je 1 g fein pulverisierte arsenige Säure wurde in kurzhalsigen Rundkolben von 50 ccm Inhalt mit 20 ccm Flüssigkeit und einigen Glasperlen eingebracht und durch einen langen Gummistopfen so verschlossen, daß für die Mischung nur der kugelförmige Raum ohne den toten Winkel des Kolbenhalses zur Verfügung stand. Die Kolben wurden radiär auf einer im Thermostaten senkrecht rotierenden Scheibe montiert und mit einer Geschwindigkeit von 60—80 Umdrehungen in der Minute bewegt, so daß das eingebrachte Pulver dauernd in Wirbelbewegung gehalten, aber nie durch Zentrifugalkraft an die Kolbenwand gepreßt wurde. Der Thermostat wurde bei 37° gehalten. Nach 10 Stunden war das Maximum der Lösung meist erreicht, doch ging sicherheitshalber jeder Versuch 24 Stunden lang. Danach wurde im Wasserbad von ebenfalls 37° von dem Bodenkörper abfiltriert und in einem Teil des Filtrats die gelöste arsenige S. quantitativ bestimmt. Hierbei bewährte sich eine kolorimetrische Methode, die sich ganz an die der Phosphatbestimmung nach Fiske und Subarow[3]) anschließt. Nur war vorher nötig, das Arsenit in Arsenat überzuführen, da nur dieses die Molybdänblaureaktion gibt. Die Überführung von As^{III} in As^{V} geschah durch Erhitzen mit NO-haltiger Salpetersäure im siedenden Wasserbad für drei Stunden. Hierbei war darauf zu achten, daß die Lösung nicht zur Trockne verdampfte, da der Rückstand nur schwer wieder in Lösung zu bringen war. Zweckmäßig arbeiteten wir mit gewöhnlichen Reagensgläsern, deren Rand zur Erleichterung des späteren quantitativen Überführens schnabelförmig ausgezogen war. Die Bestimmung wurde folgendermaßen ausgeführt. 2 ccm Filtrat wurden mit 2 ccm Salpetersäure 3 Stunden im siedenden Wasserbad erhitzt. Die anfangs rotbraune Lösung wird dabei farblos und klar. Der Inhalt des Reagensglases wird dann quantitativ in einen 100 ccm

[3]) Fiske u. Subbarow. Science (N.Y.) 65, S. 401, 1927.

Meßkolben überführt. Hiervon wird ein Teil vierfach verdünnt (z. B. 5 + 15 ccm) und davon 2 ccm zur Kolorimetrie in einen 25 ccm Meßkolben gegeben. Hierzu kommen 1 ccm Eikonogenreagens und 5 ccm Molybdatlösung sowie Wasser bis zur Marke. Nach gründlichem Mischen einstellen in ein Wasserbad von 40°. Der endgültige blaue Farbton ist je nach der Frische des Eikonogenreagens in 5—20 Minuten erreicht. Da der Farbton sehr beständig ist, empfiehlt es sich, immer 30 Minuten im Wasserbad zu lassen. Nach Abkühlen wird gegen einen Arsenatstandart kolorimetriert.

Dieser wird wie folgt hergestellt: Ausgangsmaterial ist Natriumarseniat $AsO_4Na_2H + 7H_2O$. Diese Substanz verliert durch Erhitzen auf 100° für 2 Std. ihr Kristallwasser. Von der getrockneten Substanz werden 0,24801 g im Liter Wasser gelöst. 1 ccm entspricht dann 0,1 mg As. Den Wert für As_2O_3 erhält man durch Multiplikation mit 1,318. Als Standart im obigen Versuch werden 2 ccm = 0,2 mg As verarbeitet und mit fallenden Mengen eine Eichkurve hergestellt. Der Bereich von 0,2—0,02 mg As reicht für die hier getroffene Anordnung aus. Konzentrierte As-Lösungen werden entsprechend verdünnt. Bei der Anwendung der beschriebenen Verdünnungen ist die Berechnung der Prozentwerte sehr einfach. Die mg-Werte der Kurve mit 10 multipliziert geben direkt die Prozentzahlen. Sonst ist nach folgender Formel zu berechnen:

$$g\ \%\ As = \frac{Kolorimeterwert \times 10\,000}{a \times b,}$$

wobei a die ccm zur Untersuchung verwandter Ausgangslösung und b die ccm der auf 100 verdünnten Lösung sind, die zur Molybdatreaktion kommen.

Trotz der großen Verdünnung ist die Fehlerbreite der Bestimmung gering. Vier von Anfang an getrennte Bestimmungen der Löslichkeit von As_2O_3 in Wasser ergaben:

1,82% As
1,81% „
1,80% „
1,82% „

1,812% As Durchschnitt.

In weiteren 8 Bestimmungen wurde als Mittelwert 1,811 g% As gefunden. Demnach wurde die Löslichkeit

in unserer Versuchsanordnung für arsenige Säure in Wasser von 37° zu 2,390 g% bestimmt. Derselbe Versuch in molarer Borsäure ausgeführt (6,184 g% nur bei Temperatur über 30° löslich) ergab folgende Werte:

0,98% As
1,02% „
1,00% „
0,98% „
1,04% „
0,98% „
1,00% As Durchschnitt.

Das sind 1,318% As_2O_3. Die Löslichkeit in molarer Borsäure ist alo gegenüber der in Wasser um rund 45% verringert. Verdünntere Borsäurelösungen gaben folgende Werte:

$\frac{m}{2}$ Borsäure 1,21% As
„ 1,24% „
„ 1,26% „
„ 1,239% As Durchschnitt.

$\frac{m}{4}$ Borsäure 1,51% As
„ 1,53% „
„ 1,52% As Durchschnitt.

$\frac{m}{10}$ Borsäure 1,62% As
„ 1,60% „
„ 1,61% As Durchschnitt.

Die Verringerung der Löslichkeit der arsenigen Säure ist also abhängig von der Konzentration der Borsäure und beträgt in:

$^1/_1$ molarer Lösung 44,8%
$^1/_2$ „ „ 32,3%
$^1/_4$ „ „ 16%
$^1/_{10}$ „ „ 11,1%.

Diese Verringerung der Löslichkeit ist nicht ohne weiteres zu erklären, z. B. so, daß in einer an sich schon konzentrierten Lösung eines Stoffes ein zweiter sich grundsätzlich schlechter löste. Gerade im Fall der arsenigen Säure wurden eine Reihe von Neutralsalzen geprüft, die in gesättigten Lösungen sich entweder indifferent ver-

hielten, z. B. Chloride oder sogar eine deutliche Steigerung der As-Löslichkeit hervorriefen, so die neutralen Sulfate. Auf diesen sehr interessanten Befund, der nicht in den Rahmen der Arbeit gehört, kann hier nicht näher eingegangen werden.

Zunächst wurde nun untersucht, ob das Bor-ion als solches für die Löslichkeitsminderung verantwortlich zu machen war. Dies war nicht der Fall. Borate, die alkalisch reagieren, lösten ebensogut wie freies Alkali gleicher OH-Ionenkonzentration. Dies führte zu der Überlegung, daß die Borsäure vermöge ihrer Reaktion besonders ungünstige Lösungsbedingungen für die arsenige Säure böte. Für stärkere Säuren, z. B. HCL ist bekannt, daß sie die Löslichkeit von As_2O_3 steigern.[4]) Schwächere Säuren sind offenbar nicht untersucht worden.

Die Borsäure ist eine ganz schwache Säure. Borsäure verschiedener Konzentration ergab folgende Werte bei der kolorimetr. pH-Best. nach Michaelis:

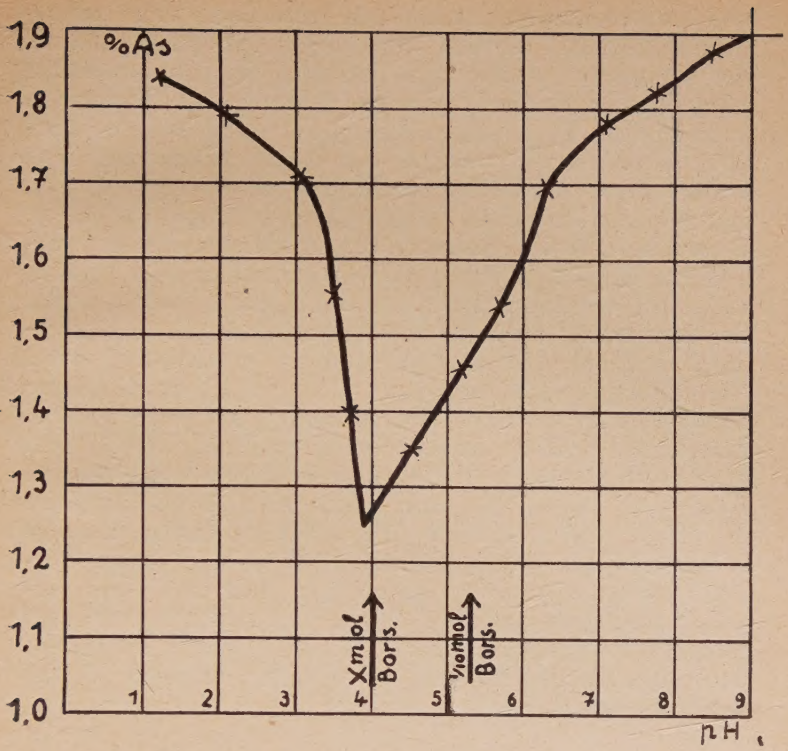
Molare Kompentration	pH
$^1/_1$	4,0
$^1/_2$	4,3
$^1/_4$	4,9
$^1/_{10}$	5,3.

Es war nun zu untersuchen, ob die Löslichkeitsbeeinflussung der As_2O_3 durch Borsäure eine Funktion des [H.] sei.

Hierzu wurden Löslichkeitsbestimmungen in Glykokoll-HCl-Puffer bzw. im alkalischen Teil Glykokoll-NaOH-Puffer gemacht[5]) und hierbei im Gemisch vor und nach der Lösung das pH kolorimetrisch bestimmt. Das Resulat aus einer großen Reihe übereinstimmender Versuche ist in der folgenden Kurve wiedergegeben, die auf der Abszisse die pH-Werte, auf der Ordinate die gelösten Mengen As in % zeigt.

Aus der Kurve ist ersichtlich, daß die Löslichkeit für arsenige S. zwischen pH 1 und pH 8 ein mächtiges Minimum zeigt, das mit seiner Spitze bei pH 3,9 liegt. Wenn man damit vergleicht, daß für molare Borsäure das pH unmittelbar daneben, bei pH 4,0 liegt, so ist damit die

[1]) [5]) Phosphatpuffer konnte wegen der folgenden As-Best. nicht benutzt werden, da dies den Gang der Bestimmung kompliziert hätte.



Verringerung der Löslichkeit der arsenigen S. fast vollkommen geklärt. Nicht ganz, denn man erkennt aus der Kurve, daß die Löslichkeitsverminderung in Glykokollpuffer von pH 4 nicht ganz so groß ist, wie in Borsäurelösung von gleichem pH. Man muß außer der unspezifischen Löslichkeitsminderung durch die Reaktion der Borsäure noch eine zweite spezifische Wirkung annehmen. Dies wird auch notwendig gemacht durch die Minderung der Giftigkeit, die die gelöste arsenige Säure bei Mischung mit Borsäure oder beim Zusammentreffen im Organismus erfährt. Man könnte die Fähigkeit der Borsäure zur Bildung von Komplexsalzen als Erklärung heranziehen. Die einfacheren Methoden, solche Komplexe nachzuweisen, das Verschwinden von Ionenreaktionen und die Verringerung der elektrischen Leitfähigkeit in molaren Mischlösungen gaben keine eindeutigen Resultate. Daß aber doch solche Komplexe außerordentlich unübersichtlicher Natur bestehen, ist vom rein physikalisch-chemischen Standpunkt

von Auerbach[6]) rechnerisch gefordert und experimentell bewiesen worden. Es handelt sich dabei zunächst um Komplexe zwischen den einzelnen Borsäuremolekülen untereinander einerseits und der Bildung von Diarseniten andererseits. Diese beiden Komplexe treten dann zu Bor-Arsenverbindungen unbekannter Natur zusammen. Die Größe dieser Molekülverbindungen ist weitgehend von der Konzentration der reagierenden Lösungen abhängig. Dieser Befund ist geeignet, die Erklärung für die verringerte Giftigkeit der As-B-Mischlösungen zu geben, wenn man annimmt, daß die As-Giftigkeit von dem Grade der Ionisierung abhängt und daß diese durch eine allerdings sehr lockere Komplexbildung vermindert wird. Der anfangs geschilderte Befund von Euler ist durch die nachgewiesene Löslichkeitsbehinderung der arsenigen S. hinreichend geklärt, denn es ist anzunehmen, daß in dem kleinen und von der Zirkulation bald abgeschlossenen Raum der Pulpahöhle auch kleine Mengen von Borsäure ihr pH erzwingen können. Die langsamer lösliche arsenige S. findet dann verschlechterte Lösungs- und damit Wirkungsbedingungen, was in diesem Fall zu einer erwünschten Bremsung des lokalen Vergiftungsvorganges führt. Die geringere und praktisch nicht ausreichende Beeinflussung gelöster und resorbierter arseniger S. ist durch Komplexbildung zu erklären.

Zusammenfassung:

1. Die lokale und resorptive Giftwirkung fester arseniger Säure wird durch Borsäure gehemmt.
2. Die Vergiftung durch gelöste arsenige Säure wird nur in ihrem Ablauf verzögert, nicht geheilt.
3. Die Wirkung unter 1. wird durch Löslichkeitsminderung, unter 2. durch Komplexbildung erklärt.

---

[6]) Auerbach Z. f. anorg. Chemie 37, S. 355. 1904.

Lebenslauf.

Am 1. April 1906 bin ich, Josef Mücke, in Kattowitz als Sohn des Reichsbahnamtmannes Otto Mücke und seiner Ehefrau Beate geboren. Ich besuchte Mittelschule und Gymnasium in Kattowitz bis Obersekunda. Prima und Abitur absolvierte ich in Oppeln. Seit 1926 studierte ich Zahnheilkunde in Breslau und machte 1929 daselbst mein Staatsexamen. Meine Dissertation bearbeitete ich im Pharmakologischen Institut der Universität Breslau. Ich bin in Breslau als praktischer Zahnarzt tätig.